

階層分子システム解析研究部門

秋山 修志（教授）（2012 年 4 月 1 日着任）

古池 美彦（助教）

堀内 滉太（助教）

尾上 靖宏（特任研究員）

NACER, Lamia（インターンシップ）

CHAWAPUN, Pornthip（インターンシップ）

近藤 貫太（大学院生）

鷺尾 みどり（技術支援員）

大原 さとみ（技術支援員）

山本 優里桂（技術支援員）

岡田 亜樹（技術支援員）

谷浦 愛子（技術支援員（派遣））

蜂須賀 円（技術支援員（派遣））

鈴木 博子（事務支援員）

A-1) 専門領域：生物物理学，時間生物学

A-2) 研究課題：

- a) タンパク質時計が奏でる概日リズムの分子科学的解明
- b) X線溶液散乱による生体分子システムの動的構造解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) シアノバクテリアをモデル系とした概日時計研究に取り組み，独自性の高い数々の研究（Mukaiyama *et al.* *BioRxiv* 2024; Furuike *et al.* *BioRxiv* 2024; Furuike *et al.*, *Sci. Adv.* 2022; Furuike *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2022; Furuike *et al.*, *Commun. Phys.* 2022; Ito-miwa *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2020; Abe *et al.*, *Science* 2015）や国際基調講演（SRBR 2022; 5th Asian Forum on Chronobiology 2021; ELSI Symposium 2020; V-WCC 2019）をとおして，「概日時計システムの周波数特性が，ごく限られた種類の構成因子にエンコードされている」という新概念を提示した（長瀬研究振興賞 2022；日本学術振興会賞 2016；文部科学大臣表彰若手科学者賞 2008；日本生物物理学会若手奨励賞 2007；2006 SAS Young Scientist Prize from IUCr）。直近では，基盤研究 (S) [2017～2021 年度]，基盤研究 (S) [2022～2026 年度]，学術変革領域 (A) 計画研究 [2024～2028 年度] 等のプロジェクトで代表者を務め，国内外の研究コミュニティの拡大に尽力するとともに，以下に詳述する波及効果の高い成果（5 件）を輩出してきた。

一つ目は，KaiC が自律的振動子として分子進化した仮説の提唱である（Mukaiyama *et al.*, *BioRxiv* 2024）。明暗サイクルは独立栄養生物の一種であるシアノバクテリアの光合成効率に影響を与える。よって，酸素発生型光合成系が確立した太古のシアノバクテリアが自律的な概日時計を保持していたかどうかを明らかにすることは，時間生物学における重要な課題である。現生型および祖先型 KaiC の機能と構造を調べ，自律的な Kai タンパク質振動子の進化の起源を明らかにした。

二つ目は、KaiC の第一自己リン酸化過程の解明である (Furuike *et al.*, *BioRxiv* 2024)。自己キナーゼ活性を有する KaiC において、T432 で起こる最初のリン酸化 (第一リン酸化) は、それに続いて起こる S431 のリン酸化 (第二リン酸化) を促進する重要なステップである。KaiC の自己リン酸化には KaiA が必須であると考えられているが、第一リン酸化の活性化と不活性化のメカニズムは依然として不明であった。我々は、KaiA 非存在下でも第一リン酸化は進行するが、その反応速度が 0.019 h^{-1} のレベルまで著しく自己抑制されていることを見いだした。構造解析や QM/MM シミュレーションを実施することにより、KaiC の自己阻害と KaiA による自己阻害解除のメカニズムを解明した。

三つ目は、KaiC に隠されたアロステリック制御の解明である (Furuike *et al.*, *Biophys. Physicobiol.* 2024; Furuike *et al.*, *Sci. Adv.* 2022; Furuike *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2022)。複雑多様なアロステリック制御は細胞機能に振動現象をもたらす非線形性の源であるため、時計タンパク質のアロステリック構造転移を解明するための努力が続けられてきた。しかし、これまでに報告されている KaiC の全構造は、リン酸化修飾の有無に依らず構造が同一であり、概日リズムを駆動するアロステリーについては理解が進んでいなかった。我々は、S431 と T432 のリン酸化修飾サイクルを網羅する 4 つの異なる状態の KaiC を結晶化し、検出された複雑多様なアロステリーを詳細に分析することで、KaiC の振動性に必須となる最小単位のアロステリーを特定した。これらの成果を複数の総説 (Furuike *et al.*, *SPring-8/SACLA Research Frontiers* 2023; 古池美彦, *日本結晶学会誌* 2023; 古池美彦, *生物物理* 2023; 古池美彦, *SPring-8/SACLA 利用者情報* 2022) として取りまとめた。複数の学協会 (日本結晶学会, 日本生物物理, SPring-8 ユーザー協同体) から、研究グループ所属の助教 (古池美彦) に若手を対象とした賞が贈られている。

四つ目は、KaiC の温度補償性に関する成果である (Furuike *et al.*, *Commun. Phys.* 2022)。時計タンパク質は、酵素活性を生理的な温度範囲で一定に保つ温度補償能を有する。他方、酵素を構成するアミノ酸は高温でより頻繁に揺らぎ、それに伴って酵素活性が上昇する傾向が一般的にみられる。よって、温度補償能を有する概日時計タンパク質のダイナミクスが特殊な制御を受けている可能性があるが、それを実験的に証明した例は皆無である。我々は、温度補償型 ATPase である KaiC のダイナミクスに及ぼす温度の影響を中性子準弾性散乱法で精査した。その結果、KaiC が揺らぎを利用しつつ、高温下で C1-ATPase 活性が上昇しないように自律制御していることが明らかとなった。酵素が自らの活性を高めるためだけでなく、恒常性を実現する自律的手段として揺らぎを積極的に利用していることを示す独自性の高い研究成果である。

五つ目は、概日時計の絶対的な遅さの起源解明である (Furuike *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2022; Simon *et al.*, *Biophys. Physicobiol.* 2022; Abe *et al.*, *Science* 2015)。概日時計は、ゆっくりとした秩序ある細胞ダイナミクスを生み出す、高速で動く生体高分子で構成されているため、全体としての遅さの原因は不明であった。我々は、周期を規定する C1-ATPase の遅さが、加水分解に用いられる水分子の隔離や、高い活性化エネルギーを有するペプチド異性化に起因していることを解明した。本成果は国内外の化学誌 (*ChemistryWorld* June 2015, *現代化学* 2015)、専門家評価コメント (<http://smc-japan.org/?p=4072>)、国内の新聞記事 (毎日新聞, 日本経済新聞) 等で取り上げられ、学術的な新規性が世界的に高く評価されている。

- b) 生体分子システム (時計タンパク質, 抗酸化酵素, 受容体など) の X 線溶液散乱を記録し、散乱データと結晶構造の比較や低分解能モデルの構築を通して、分子システムの動的構造解析を行った (Inobe *et al.*, *FEBS Lett.* 2024)。

B-4) 招待講演

秋山修志,「Past & Future of the Circadian Clock System in Cyanobacteria」, 学術動向調査の会, 熱海, 2025年3月.

秋山修志,「Past & Future of the Circadian Clock System in Cyanobacteria」, 第3回タンパク質シンポジウム, 東京大学鉄門記念講堂, 東京, 2025年1月.

秋山修志,「KaiCの反応・動態・構造から探る概日時計制御機構」, 第二回領域会議, 高槻, 2025年1月.

古池美彦, 森 俊文, 秋山修志,「Molecular Mechanism of KaiC Autophosphorylation」, 第31回時間生物学会学術大会, 富山国際会議場, 富山, 2024年11月.

秋山修志, 古池美彦, 森 俊文,「Mechanism of KaiC Autophosphorylation」, 第97回日本生化学会大会, パシフィコ横浜, 横浜, 2024年11月.

秋山修志,「KaiCの反応・動態・構造から探る 概日時計制御機構」, キックオフシンポジウム・公募説明会, 東京大学, 東京, 2024年7月.

S. AKIYAMA, “Past & Future of the Circadian Clock System in Cyanobacteria,” IPR International Conference 2025, Awaji Island, Awaji (Japan), January 2025.

S. AKIYAMA, “Evolution of Cross-scale Causality in the Cyanobacterial Circadian Clock System,” SAS2024, Taipei (Taiwan), November 2024.

S. AKIYAMA, “Autonomous Disassembly of Circadian Clock System of Cyanobacteria at Dawn,” Sapporo Symposium on Biological Rhythm 2024, Sapporo (Japan), August 2024.

S. AKIYAMA, “Cross-Scale Causality in the Cyanobacterial Circadian Clock System,” International Chronobiology Summer School 2024, Nagoya (Japan), August 2024.

S. AKIYAMA, “Past & Future of the Circadian Clock System in Cyanobacteria,” SRBR 2024 Biennial Conference, San Juan (Puerto Rico), May 2024.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生物物理学会理事 (2023–2025).

学会の組織委員等

名古屋大学大学院理学研究科 学会組織委員 (2025).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術会議連携会員 (2020–2024).

SPring-8長期利用分科会委員 (2019–).

日本学術振興会学術システム研究センター研究員 (2023–2026).

学会誌編集委員

Biophysics and Physicobiology, Editorial Board Members (2022–2025).

B-8) 大学等での講義, 客員

琉球大学, 非常勤講師, 2025年1月–3月.

琉球大学, 客員教授(客員研究員), 2025年1月–3月.

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(S),「概日時計の複雑多様性の単純化」(代表:秋山修志),古池美彦(研究分担者)(2022年度-2026年度).

科研費学術変革領域研究(A),「時間タンパク質学:KaiCの反応・動態・構造から探る概日時間制御機構」,秋山修志(2024年度-2028年度).

日本学術振興会学術動向等に関する調査研究(受託研究),「生物物理学関連分野に関する学術研究動向」,秋山修志(2023年度-2024年度).

武田科学振興財団 2022 年度生命科学研究助成,「概日時計タンパク質 KaiC における構造多型の操作と解析」,秋山修志(2022 年度-2026 年度).

(公財)豊秋奨学会 2023 年度研究費助成,「月面環境サイクルに適合した概月時計の設計」,秋山修志(2023 年度-2025 年度).

科研費若手研究,「時計タンパク質の絡み合ったアロステリック運動を読み解く」,古池美彦(2022 年度-2024 年度).

科研費学術変革領域研究(A),「時間タンパク質学領域の総括」(代表者:吉種 光),秋山修志(研究分担者)(2024 年度-2028 年度).

科研費基盤研究(B),「Kai システムの自律振動過程で生じる KaiC-KaiA/KaiB 結合モードの時間依存的変調」(代表者:上久保裕生),秋山修志(研究分担者)(2023 年度-2025 年度).

C) 研究活動の課題と展望

2017 年度から取り組んできた基盤研究(S) [統合的多階層アプローチによるシアノバクテリア生物時計システムの新展開:2017 ~ 2021 年度]が終了し, Kai タンパク質時計の普遍性と多様性の解明, ATPase /リン酸化構造基盤の解明, 温度補償性と揺らぎの関係性の解明, いずれにおいても当初の目標を上回る新発見があった(最終年度検証結果:A)。2023 年度に開始した基盤研究(S) [概日時計の複雑多様性の単純化:2022 ~ 2026 年度]については, 2024 年度に「A (順調に研究が進展しており, 期待どおりの成果が見込まれる)」との中間評価を頂いた。2023 年度に開始した基盤研究(S), そして 2024 年に採択された学術変革領域(A) の計画研究(代表), いずれの課題についても波及効果の大きい論文として公表できるよう, 今の質を堅持しつつも更にペースを上げて研究を進める。